

不同炮制方法对天麻素及天麻苷元含量的影响

毕荣璐¹, 倪兆武², 李德勋², 仇全雷³, 刘祥义^{1△}

(1. 西南林业大学, 云南昆明 650224; 2. 昭通市食品药品检验所, 云南昭通 657000;

3. 彝良小草坝野生天麻开发有限公司, 云南彝良 657600)

摘要: 目的 考察不同炮制方法对天麻中天麻素、天麻苷元含量的影响, 从而得到天麻最佳炮制方法。方法 分别对天麻鲜切片进行微波加热、直接晒干、常压蒸煮、冷冻干燥、热风干燥处理后, 采用 HPLC 法, MD-ODS C₁₈ 柱(250mm×4.6mm, 5μm) 色谱柱测定天麻中天麻素和天麻苷元的含量。结果 天麻切片微波处理 30s 后, 天麻素含量最高, 天麻素和天麻苷元含量总量最高。结论 综合天麻素和天麻苷元两个指标, 以及处理后天麻的外观形态, 微波处理 30s 这种炮制方法为最佳, 但考虑到生产中的实际条件, 水蒸 5min 可为生产提供参考依据。

关键词: 炮制; 天麻素; 天麻苷元; 含量

中图分类号: R283.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2015)01-0034-04

天麻(*Gastrodia elata* BL.) 属兰科多年生草本植物的地下干燥块茎^[1], 主产于陕西、云南、贵州等地, 其主要成分为天麻素、天麻苷元等酚类化合物及甾醇、核苷、有机酸、多糖等^[2], 其中天麻素和天麻苷元为天麻中主要的药用活性成分^[3]。天麻素具有镇静、抗癫痫、镇痛、安眠等作用^[4]。天麻苷元与天麻素一样亦具有镇痛效果^[5]。目前天麻最佳炮制的方法的考察多基于测定天麻素的含量^[6-14]。本试验将新鲜天麻样品切片后称重混匀, 分别以直接晒干、煮制、蒸制、烘烤、冷冻干燥等不同处理方法对天麻切片进行处理, 用 HPLC 测定天麻素和天麻苷元的含量, 旨在观察天麻素和天麻苷元的动态平衡或二者之和总量不变的理论数据, 同时为天麻的产后加工提供更科学有效的方法。

1 实验设备与材料

1.1 主要设备

LC-2010AHT 高效液相色谱仪, 日本岛津公司; XPE-105 电子天平, 梅特勒-托利多国际股份有限公司; DZF-6030B 型鼓风干燥箱, 上海恒科公司; Biosafer-10B 台式冻干机, 赛飞(中国)有限公司; 微型植物组织粉碎机, 北京中兴伟业仪器公司生产; 美的微波炉, 佛山市顺德区美的微波电器制造有限公司; HH-S 恒温水浴箱, 郑州长城科技公司。

1.2 材料

1.2.1 原料

乌天麻(新鲜)采自云南省昭通市彝良县小草坝海子公社, 采样时间 2014 年 2 月 18 日。

1.2.2 试剂

天麻素对照品(批号: ZL20110720A), 南京泽朗医药科技有限公司; 天麻苷元对照品(批号: ZL131022AN), 南京泽朗医药科技有限公司; 乙腈(色谱纯), 天津市科密欧化学试剂有限公司; 水为娃哈哈纯净水, 其余试剂均为市售分析纯。

2 实验内容与方法

2.1 色谱条件

按照 2010 年版《中国药典》天麻素含量测定方法测定^[1]。色谱柱: 色谱柱: MD-ODS C₁₈ 柱(250mm×4.6mm, 5μm), 流动相: 乙腈-0.05% 磷酸溶液(3: 97), 检测波长: 220nm, 流速: 1.0mL/min, 柱温: 40℃, 进样量: 20μL。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液的制备

取天麻素对照品 0.150 0mg(纯度: 98.42%), 加流动相定溶于 100mL 量瓶中, 配制成每 mL 含 147.63μg(147.63μg/mL) 的标准品溶液, 即得。

取天麻苷元对照品 0.200mg(纯度: 98.35%), 加

收稿日期: 2014-09-22

作者简介: 毕荣璐(1990-), 女, 云南弥勒人, 在读硕士研究生, 研究方向: 植物化学。

△通信作者: 刘祥义, E-mail: 13577068220@126.com

流动相定溶于 100mL 容量瓶中,配制成每 mL 含 196.70 μ g(196.70 μ g/mL)的标准品溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液制备

参照 2010 版药典方法对样品进行处理^[1]。取各试验组天麻切片样品(60 $^{\circ}$ C真空干燥),粉碎,所有样品过 60 目筛,精密称定 2.0g,精密加入 50%乙醇 50mL,称定重量,加热回流 3h,放冷再称定重量,用提取溶剂补足减失的重量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 20mL 浓缩至近干,加入 20%乙腈水溶液溶解,定溶于 50mL 容量瓶中,稀释至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μ m)滤过,既得供试品溶液。

2.3 标准曲线的绘制

精密量取对照品天麻素和天麻苷元储备液适量,加乙腈-水(3:97)溶液制成每 1mL 含天麻素 118.10,88.58,59.05,29.53,9.84 μ g 的溶液和每 1mL 含天麻苷元 196.71,98.35,49.18,19.67,9.84 μ g 的溶液,进样量均为 20 μ L,按含量测定方法测定峰面积,并以峰面积的积分值为纵坐标,对照品进样量为横坐标建立标准曲线,计算回归方程分别为 $Y_{\text{天麻素}}=28\ 217\ 324.344\ 0x+76\ 239.371\ 4$, $r=0.999\ 7$ 和 $Y_{\text{天麻苷元}}=59\ 919\ 005.988\ 2x+27\ 037.854\ 9$, $r=0.999\ 8$,天麻素在 0.196 8 μ g~2.362 0 μ g 范围内有良好的线性关系,天麻苷元在 0.196 8 μ g~3.934 2 μ g 范围内有良好的线性关系。

2.4 精密度试验

分别取 $C_{\text{S 天麻素}}=147.63\mu\text{g/mL}$ 、 $C_{\text{S 天麻苷元}}=196.70\mu\text{g/mL}$ 对照品溶液,每次进样量为 20 μ L,重复进样 6 次,RSD 为 1.02%和 1.47%,精密度良好。

2.5 稳定性试验

取水蒸 7.5min 组供试品溶液室温放置,分别于 0,2,4,8,12h 进样 20 μ L,测定天麻素、天麻苷元吸收峰面积,计算 RSD 值为 1.97%和 1.44%,表明供试品溶液在室温下放置 12h 稳定。

2.6 重复性试验

分别称取 60 $^{\circ}$ C干燥 24h 后水蒸 7.5min 组天麻样品 5 份,每份 2.0g 精密称定。按供试品溶液制备方法制备 5 份供试品溶液,测定天麻素、天麻苷元吸收峰面积,计算 RSD 值为 2.17%和 1.98%,表明该方法提取测定天麻素天麻苷元可行。

2.7 回收率试验

分别精密称取 60 $^{\circ}$ C干燥 24h 后水蒸 7.5min 组

天麻样品 6 份,每份 2.0g 精密称定,一份加入 50mL 50%乙醇作为对照组,其余 5 份各精密加入 50%乙醇 40mL 并加入 10mL 已知浓度的 88.58 μ g/mL 的天麻素对照品溶液和 98.35 μ g/mL 天麻苷元对照品溶液,按供试品溶液制备方法制备供试品溶液,测定天麻素和天麻苷元含量,计算回收率为 97.07%和 94.13%,RSD 值为 1.72%和 1.88%。

2.8 天麻炮制方法

取同一穴天麻大小相近的新鲜天麻分别切片,均匀分成 16 份。

2.8.1 自然晒干

取 1 份新鲜天麻切片直接在阳光下晒 2d,自然风干,待用。

2.8.2 水煮

取 3 份新鲜天麻切片分别放入沸水中煮 2.5,5.0,7.5min,再于 60 $^{\circ}$ C烘箱热风干燥,待用。

2.8.3 水蒸

取 3 份新鲜天麻切片分别在蒸锅上蒸制 5.0,7.5,10.0min,再于 60 $^{\circ}$ C烘箱热风干燥,待用。

2.8.4 微波炮制

取 3 份新鲜天麻切片分别放于 800W 功率下的微波炉里加热 30,60,90s,再于 60 $^{\circ}$ C烘箱热风干燥,待用。

2.8.5 热风干燥

取 3 份新鲜天麻切片放于鼓风干燥箱里分别于 110,115,120 $^{\circ}$ C加热 10min 后,再于 60 $^{\circ}$ C烘箱热风干燥,待处理。

取 2 份新鲜天麻切片分别放于 60 $^{\circ}$ C鼓风干燥箱里烘干和 60 $^{\circ}$ C真空干燥箱里烘干,待用。

2.8.6 真空冷冻干燥

取 1 份新鲜天麻切片,4 $^{\circ}$ C预冻 2h 后放入冷冻干燥机中 48h,然后真空抽干,成粉末,待用。

3 结果与讨论

3.1 结果

不同炮制方法天麻的外观形态比较和天麻素、天麻苷元含量的测定结果见表 1 以及图 1-3。

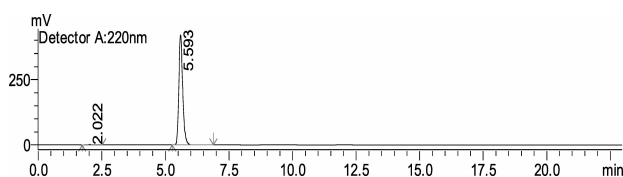


图 1 天麻素对照品色谱图

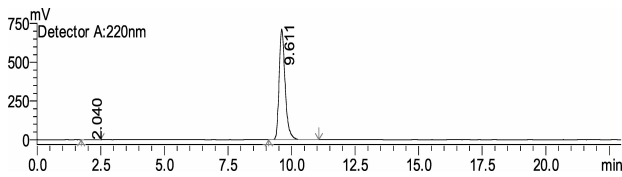


图 2 天麻苷元对照品色谱图

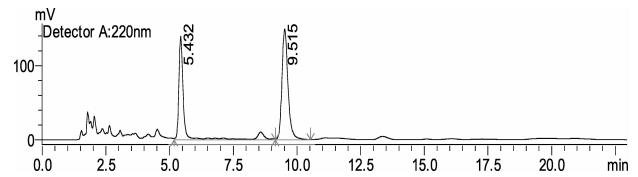


图 3 天麻样品色谱图(微波 30s)

表 1 不同炮制方法天麻的外观形态比较和天麻素、天麻苷元含量的测定结果

炮制方法	颜色	卷曲程度	质地	回潮度	天麻素含量 百分比/ %	天麻苷元含量 百分比/ %	总百分 比/ %
直接晒干	暗灰,表面有白色粉末		生脆,容易折断		0.57	0.30	0.87
水煮 2.5min					1.48	1.01	2.49
水煮 5.0min	黄色透明,表面无白色粉末				1.22	1.55	2.77
水煮 7.5min		卷曲程度大			1.12	0.54	1.66
水蒸 5.0min			坚硬,不容易 折断	均 不 容 易 回 潮	1.60	1.63	3.23
水蒸 7.5min	黄色,表面无白色粉末				1.25	2.03	3.28
水蒸 10min					1.23	1.84	3.07
微波 30s					1.71	1.79	3.50
微波 60s	黄色透明,表面无白色粉末	卷曲程度小			1.64	1.27	3.01
微波 90s					1.58	1.46	3.04
热风 110℃					0.84	2.09	2.93
热风 115℃	暗黄,表面有白色粉末				0.51	2.36	2.97
热风 120℃		卷曲程度大	生脆,容易折断		0.21	1.53	1.74
60℃恒温					0.49	1.81	2.30
60℃真空	暗灰,表面有白色粉末				0.61	2.24	2.85
真空冷冻干燥	白色粉末	--	--	容易回潮	0.67	2.50	3.17

从表 1 可以看出,用微波处理天麻切片 30s 后,天麻中天麻素的含量最高,为 1.71%;120℃热风干燥 10min 组天麻素含量最低。真空冷冻干燥处理后的天麻,天麻苷元含量最高,为 2.50%。综合天麻素和天麻苷元 2 个指标(以天麻素为主)以及处理后天麻的外观形态,微波处理 30s 这种炮制方法为最佳,不经任何处理直接晒干的天麻炮制方式最次。考虑到生产中的实际条件,水蒸 5min 可为生产提供参考依据。

3.2 讨论

从结果可以看出,在水蒸 3 种处理方式中,天麻素和天麻苷元基本处于平衡状态,随着时间的增加,天麻素含量逐渐降低,天麻苷元含量逐渐升高,且天麻素与天麻苷元含量之和差异不大。在这一点上微波处理 60s 和微波处理 90s,热风 110℃处理 10min 和热风 115℃处理 10min,包括水煮 2.5min 和

水煮 5min 这 3 组数据都有所体现。但是 120℃热风干燥 10min 处理以及水煮 7.5min 以后,天麻素和天麻苷元的含量都明显降低,这说明天麻素和天麻苷元含量处于平衡状态是基于同一种炮制方式一定时间段。水煮 7.5min 组天麻样品中天麻素和天麻苷元含量较 2.5min 和 5min 组样品中天麻素天麻苷元含量下降明显,可能是由于水煮时间过长,其天麻有效成分被煮出而造成损失。

炮制是我国传统中医药体系的重要组成部分,不规范的炮制方法将导致中药饮片质量的不稳定,严重影响中药治疗的效果^[9]。本实验研究结果表明,炮制方法对于天麻素和天麻苷元的含量有重要的影响。天麻中天麻素含量不稳定,同一地点采样地点同一种炮制方法不同天麻个体测出的天麻素含量都不一样,尤其以不同炮制方法对天麻素含量影响较大。本试验为了避免前者对天麻素及其天麻苷

元含量的影响,采样时只取了同一地点,大小相近天麻切片均分为 16 组,保证了每组天麻成分是一致的,这样在探讨不同炮制方法对天麻素及其天麻苷元含量的影响时结果就具有了较高的可信度。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:54.
- [2] 王莉. 天麻化学物质基础及质量控制方法研究[D]. 大连:中国科学院大连化学物理研究所,2007.
- [3] 王俏. 天麻素和天麻苷元的体内外代谢和靶向性研究[D]. 杭州:浙江大学药学院,2007.
- [4] 岑信钊. 天麻的化学成分与药理作用研究进展[J]. 中药材,2005,28(10):958-962.
- [5] 张怡评,林丽聪,吴春敏,等. 天麻素与天麻苷元的镇痛作用研究[J]. 福建中医学院学报,2006,16(6):30-31.
- [6] 秦俊哲,张洁,周涵,等. 不同炮制方法对天麻素含量的影响[J]. 中药材,2006,29(12):1285-1288.

- [7] 宋熾,朱俊杰,罗书,等. 常压蒸制法炮制天麻的工艺研究[J]. 中成药,2008,30(7):1016-1018.
- [8] 樊启猛,陈朝银,林玉萍,等. 天麻的炮制研究与规范[J]. 中成药,2013,35(8):1737-1741.
- [9] 刘毅,张丽艳,谢宇,等. 天麻最佳炮制工艺的综合评分法研究[J]. 时珍国医国药,2009,20(2):378-379.
- [10] 王玫瑰,张先洲. 天麻蒸制工艺的优化研究[J]. 中国药师,2012,15(1):70-72.
- [11] 郑秀艳,邓青芳,陈华国,等. 天麻中天麻素的提取工艺优化[J]. 贵州农业科学,2013(12):163-166.
- [12] 仲瑞雪,钟恋,万军,等. 天麻饮片分级的研究[J]. 中成药,2014,36(1):135-140.
- [13] 田野,李秀芳,杨莲,等. HPLC 法对三产地天麻中天麻素的含量测定[J]. 云南中医学院学报,2008,31(3):6-8.
- [14] 刘红,陈燕芹,罗树常,等. 反相高效液相色谱法同时测定天麻中天麻素和 3 种核苷[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(17):81-83.

(编辑:杨阳)

Influence on the Content of Gastrodin and p-hydroxybenzyl Alcho in Different Processing Methods

BI Rong-lu¹, NI Zhao-wu², LI De-xun², QIU Quan-lei³, LIU Xiang-yi¹

(1. Southwest Forestry University, Kunming 650224, China;

2. Food and Drug Inspection in Zhaotong city, Zhaotong 657000, China;

3. Xiaocaoba wild Tianma Development Co., Ltd., Yiliang 657600, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the effects of different levels of processing methods *Gastrodia* Gastrodin (Gas), p-hydroxybenzyl alcho (HBA) to thereby obtain optimum processing methods of *Gastrodia*. **Methods** *Gastrodia* fresh slices on microwave heating, direct dried, pressure cooking, freeze drying, air drying treatment, by HPLC, MD-ODS C₁₈ column(250mm × 4.6mm, 5μm) column, the contents of Gas and HMA were measured. **Results** *Gastrodia* fresh slices after microwave 30s treatment, which has the highest content of gastrodin and the total content of the gastrodin and p-hydroxybenzyl alcho also highest. **Conclusion** Comprehensive gastrodin and p-hydroxybenzyl alcho two indicators, as well as post-processing morphology *Gastrodia*, microwave treatment 30s this processing method is the best, but taking into account the actual production conditions, water vapor 5min can provide a reference for the production.

KEY WORDS: cooked; gastrodin; p-hydroxybenzyl alcho; content

(上接第 33 页)

- [7] 公衍玲,金宏,王宏波. 侧柏叶挥发油提取工艺及其抑菌活性研究[J]. 化学与生物工程,2009,26(2):36-38.
- [8] 梁统,覃燕梅,梁念慈,等. 侧柏总黄酮的抗炎作用及机制[J]. 中国药理学通报,2003,19(12):1407-1410.
- [9] 丁航,刘慧明,梁统,等. 侧柏叶中黄酮类化合物对 H₂O₂ 诱导的人红细胞氧化作用的影响[J]. 实用临床医学,2003,4(3):23-24.
- [10] 余子川,余捷婧,韩建伟. Box-Behnken 效应面法优化地

乌总皂苷提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(10):50-53.

- [11] 邱颖,朱玲,孙晓英. 星点设计-效应面优化法与正交设计和均匀设计的比较及其在药剂研究中的应用[J]. 海峡药学,2011,23(2):18-20.
- [12] 吴伟,崔光华. 星点设计-效应面优化法及其在药学中的应用[J]. 国外医学·药学分册,2000,27(5):292.

(编辑:杨阳)